

新型免疫状态定量监测皮肤移植模型小鼠的特异性*☆

潘明新, 钟利民, 汪艳, 高毅, 蒋泽生

Specificity of new quantitative monitoring of immune status in skin transplantation model rats

Pan Ming-xin, Zhong Li-min, Wang Yan, Gao Yi, Jiang Ze-sheng

Abstract

Second Department of Hepatobiliary, Affiliated Zhujiang Hospital, Institute for Regenerative Medicine of Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China

Pan Ming-xin ☆, Doctor, Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, Second Department of Hepatobiliary, Affiliated Zhujiang Hospital, Institute for Regenerative Medicine of Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China pmxwxy@sohu.com

Correspondence to: Gao Yi, Second Department of Hepatobiliary, Affiliated Zhujiang Hospital, Institute for Regenerative Medicine of Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China

Correspondence to: Jiang Ze-sheng, Doctor, Associate chief physician, Associate professor, Second Department of Hepatobiliary, Affiliated Zhujiang Hospital, Institute for Regenerative Medicine of Southern Medical University, Guangzhou 510282, Guangdong Province, China zsjiang@hotmail.com

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No.30972825*

Received: 2011-12-08
Accepted: 2012-01-17

BACKGROUND: How to monitor the recipient's immune status, and predict the occurrence of rejection after organ transplantation, in order to adjust the dosage of immunosuppressive agents is the important issue faced currently.
OBJECTIVE: To investigate antigen-specificity of new quantitative monitoring of immune status in skin transplantation model rats
METHODS: The C57→BALB/c skin graft injection model was established, the models were injected with C57/BALB/c mixed splenocytes suspension and third party DBA/BALB/c mixed splenocytes suspension respectively. The proportion of mixed cell suspension and killing rate of donor cells were detected after cells injection. The homologous series skin transplantation control group was setted, and compared with immunocompromised nude mice control group and immunosuppressant control group.
RESULTS AND CONCLUSION: The C57/BALB/c suspension in model group and C57/BALB/c in immunosuppressant group had a strong specific cytotoxicity on C57 splenocytes of the donors. The specific cytotoxicity of C57/BALB/c suspension in immunosuppressant group was weak, and there was no obvious specific cytotoxicity in the cells at 2-4 hours after third party DBA/BALB/c mixed splenocytes injection. However, the cells of immunocompromised nude mice had no specific cytotoxicity. The antigen-specific immune status detection method established in the experiment can detect the immune status of skin transplant recipients rapidly.

Pan MX, Zhong LM, Wang Y, Gao Y, Jiang ZS. Specificity of new quantitative monitoring of immune status in skin transplantation model rats. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(5): 818-822. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 器官移植后如何监测受者的免疫状态, 并预测排斥反应的发生, 从而调整免疫抑制剂的用量是当前面临的重要问题。
目的: 探索新型免疫状态定量监测方法在小鼠皮肤移植模型中是否有抗原特异性。
方法: 建立 C57→BALB/c 皮肤移植排斥模型, 分别输注 C57/BALB/c 混合脾细胞悬液及第三者对照 DBA/BALB/c 混合脾细胞, 在细胞输注后检测 2 种混合细胞悬液比例变化及供体细胞杀伤率, 同时设置 BALB/c→BALB/c 同系皮肤移植对照组, 免疫低下裸鼠对照组及免疫抑制剂对照组与之对比。
结果与结论: C57/BALB/c 悬液-移植排斥模型组和 C57/BALB/c 悬液-移植排斥模型免疫抑制剂组小鼠对供体 C57 脾细胞有强烈的特异性杀伤作用, 其中 C57/BALB/c 悬液-移植排斥模型免疫抑制剂组特异性杀伤作用稍弱, 而输注第三者对照 DBA/BALB/c 混合脾细胞的小鼠细胞注射 2~4 h 内没有明显特异杀伤作用, 但免疫低下的裸鼠始终未表现出特异性杀伤。说明实验建立的抗原特异性免疫状态检测方法能够快速检测出皮肤移植受体的免疫状态。
关键词: 羧基荧光素乙酰琥珀酰亚胺酯; 流式细胞仪; 细胞毒性试验; 移植排斥; 细胞示踪; 免疫监测
doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.05.014

潘明新, 钟利民, 汪艳, 高毅, 蒋泽生. 新型免疫状态定量监测皮肤移植模型小鼠的特异性[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(5): 818-822. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

移植受者长期服用大量非特异的免疫抑制剂, 会使感染、肿瘤、心血管疾病的发生率增高, 以及产生全身性的毒性等不良反应, 而经验性地减药、停药又会增加患者发生排斥反应的风险。保存受者免疫力, 尽可能减小免疫抑制剂用量或诱导免疫耐受一直是移植免疫学家的主要目标^[1-3]。

目前临床常用受体免疫状态的监测的方式仍然是临床症状评估结合移植活检^[4]。但是, 活组织病理检查对移植体和宿主均是一种损伤性检查。

本次实验拟通过活细胞染料羧基荧光素乙

酰乙酸琥珀酰亚胺酯 (carboxyfluorescein diacetate succinimidylester, CFDA-SE, 又简称为CFSE)标记移植复合抗原供体细胞, 利用流式细胞仪检测供体淋巴细胞在受体内遭受排斥反应过程, 观察皮肤移植小鼠的免疫状态。

1 材料和方法

设计: 随机对照动物实验。

时间及地点: 于2011-01/06在南方医科大学再生医学研究所完成。

材料:

实验动物: 选择健康、清洁级、近交系6~8周雌性C57BL/6j 纯系小鼠120只作为供体, 体质量16~22 g (实验动物合格证号: 2006B008);

6~8周雌性BALB/c 纯系小鼠200只作为受体, 体质量16~22 g (实验动物合格证号: 2006B020), 6~8周雌性BALB/c-nu 裸鼠40只作为受体, 体质量20~30 g(实验动物合格证号: 20060015)。3种小鼠均购自南方医科大学试验动物中心, SPF级饲养。

健康、清洁级、近交系6~8周雌性DBA 纯系小鼠40只, 体质量16~22 g(实验动物合格证号: 2004-0011)作为第三者对照, 购自中山医科大学试验动物中心, SPF级饲养。实验前观察1周, 标准饲料喂养, 饮水随意。

实验过程中对动物处置方法符合动物伦理学要求。

主要试剂及仪器:

| 试剂及仪器 | 来源 |
|---------------|------------------------|
| CFSE | Molecularprobes 公司, 美国 |
| 红细胞裂解液, 流式细胞仪 | BD 公司, 美国 |

方法:

实验分组: 依据小鼠脾细胞种类和受体小鼠品种, 实验分为C57/BALB/c悬液-移植排斥模型组、DBA/BALB/c悬液-移植排斥模型组、C57/BALB/c悬液-自体皮肤移植组、DBA/BALB/c悬液-自体皮肤移植组、C57/BALB/c悬液-移植排斥模型免疫抑制剂组和C57/BALB/c-C57/裸鼠移植组, 每组5只小鼠。

脾细胞混合悬液配制及染色: 取小鼠脾脏, 用200目不锈钢网研磨法制备脾细胞悬液, 用红细胞裂解液在室温下裂解红细胞, 0.01 mol/L PBS稀释分别配制 C57 小鼠和BALB/c小鼠脾细胞的混合细胞悬液, DBA小鼠和BALB/c小鼠脾细胞的混合细胞悬液。

C57脾细胞及 DBA 脾细胞用0.3 μmol低浓度 CFSE染色, BALB/c 脾细胞用6 μmol高浓度 CFSE 染色。染色孵育温度为 37 °C, 时间15~20 min。

按细胞数1:1 比例混合两种荧光染色细胞, 稀释后细胞计数, 调整细胞浓度在 $1 \times 10^{11} \text{ L}^{-1}$ 备用。染色后在荧光显微镜下观察, 阳性细胞比例达 95%以上, 并用锥虫蓝溶液检测细胞活性, 活细胞比例达95%以上。

皮肤移植模型的建立: 根据分组需要建立3种移植模型, 分别以C57小鼠为供体, BALB/c小鼠为受体建立移植排斥模型; BALB/c小鼠同时为受体及供体建立自体皮肤移植模型; C57小

鼠为供体, 裸鼠为受体建立裸鼠皮肤移植模型。

取约 1 cm×1 cm大小供体鼠背部皮肤, 用眼科剪将皮下组织修剪干净, 并将受体小鼠背部用手术刀切除一块同样大小的皮肤, 保留皮下组织, 然后将供体皮片用 5~0无创缝合线固定在受体小鼠背部, 用纱布包扎伤口, 胶布固定, 松紧适度。待移植排斥模型移植皮片完全脱落后(皮肤移植后2周)备用。

细胞输注: 将受体小鼠固定鼠笼中, 仅鼠尾显露; 体积分数为75%的乙醇消毒后, 用4号头皮针穿刺成功后注射混合脾细胞悬液总量约 0.5 mL/只, 每只小鼠注射细胞数 $(5\sim 10) \times 10^7$ 个。

流式细胞仪分析外周血C57细胞与BALB/c比例: 在细胞输注后 1, 2, 4, 12, 24, 48, 72 和144 h, 每组取5只小鼠, 用消毒毛细管穿刺小鼠内眦取血, 每次约200 μL, 用红细胞裂解液在室温下裂解红细胞, 经 PBS 洗涤3次后流式细胞仪检测, 选定淋巴细胞分析为分析对象, 每份标本测定10 000个细胞。

供体细胞杀伤率: 由于供体细胞主要组织相容性抗原表型与受体小鼠的不同而受到受体排斥, 将供体细胞被排斥的数量与剩余的受体细胞的量的比例称为杀伤率。

$$\text{杀伤率} = 1 - \frac{\text{剩余的异基因脾细胞数}}{\text{剩余的同基因脾细胞数}} \times 100\%$$

当注射时细胞比例不为1:1时, 需要引进一个校正系数P:

$$P = \frac{\text{注射时异基因脾细胞数}}{\text{注射时同基因脾细胞数}}$$

$$\text{杀伤率} = \left(P - \frac{\text{剩余的异基因脾细胞数}}{\text{剩余的同基因脾细胞数}} \right) / P \times 100\%$$

制作杀伤率曲线图。

主要观察指标: 皮肤移植排斥模型组与各实验对照组移植皮肤存活情况、免疫状态流式结果。

统计学分析: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 13.0软件采用单向方差分析, 组间比较用S-N-K法检验。P < 0.05差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 所有小鼠均进入结果分析, 无脱失。

2.2 皮肤移植排斥小鼠皮肤病理形态 C57/BALB/c皮肤移植排斥模型小鼠在移植后7 d皮肤开始脱落, 13 d时所有模型移植皮肤均

南方医科大学附属珠江医院肝胆二科, 南方医科大学再生医学研究所, 广东省广州市510282

潘明新☆, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要从事肝胆外科方面的研究。
pmxwxy@sohu.com

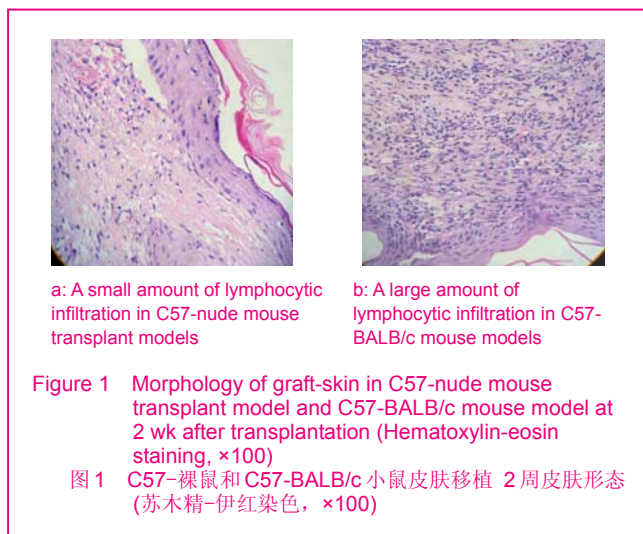
通讯作者: 高毅, 南方医科大学附属珠江医院肝胆二科, 南方医科大学再生医学研究所, 广东省广州市510282

通讯作者: 蒋泽生, 博士, 副主任医师, 副教授, 南方医科大学附属珠江医院肝胆二科, 南方医科大学再生医学研究所, 广东省广州市510282
zsjiang@hotmail.com

中图分类号: R617
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225 (2012)05-00818-05

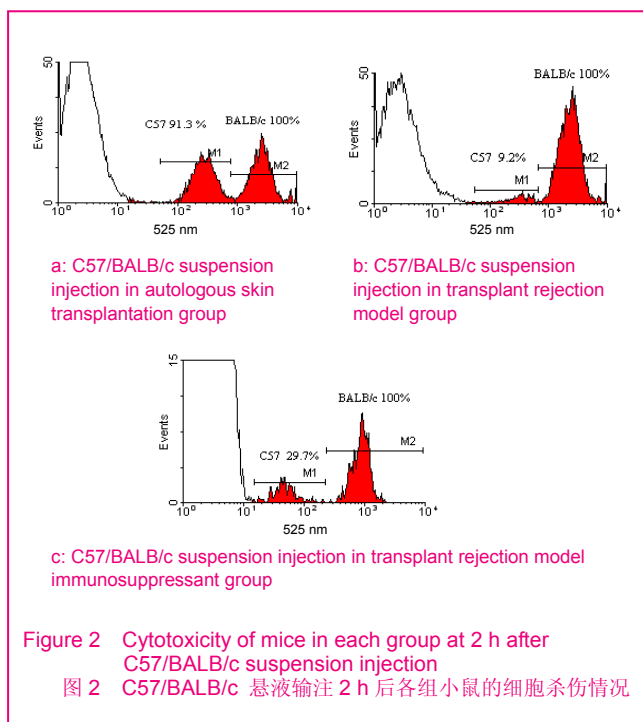
收稿日期: 2011-12-08
修回日期: 2012-01-17
(20111208004/YJ·C)

脱落; C57-裸鼠皮肤移植模型在2周后皮肤也全部脱落; 同系 BALB/c-BALB/c自体皮肤移植2周后完全存活。C57/BALB/c皮肤移植排斥模型及C57-裸鼠皮肤移植模型 2 周常规病理形态见图1。



2.3 各组小鼠供体细胞杀伤率结果 C57-BALB/c悬液-移植排斥模型组输注混合细胞悬液2 h外周血 C57脾细胞与BALB/c比例由注射时的1:1降到0.1:1左右, 供体脾细胞已经被基本清除。

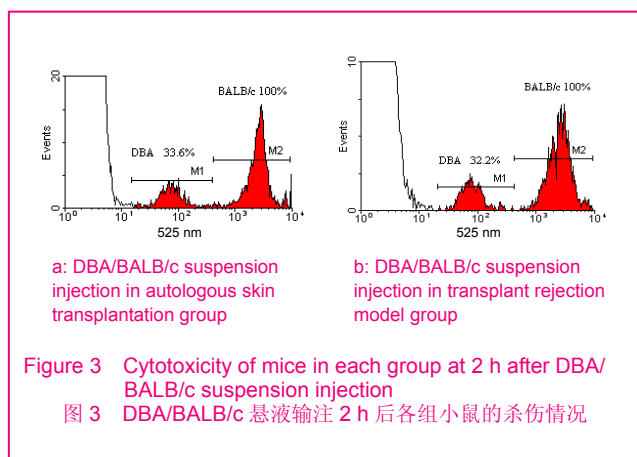
而自体移植模型对异基因 C57 细胞2 h没有表现出特异性杀伤, 两种细胞比例仍在0.9:1左右。C57/BALB/c悬液-移植排斥模型免疫抑制剂组2 h供体C57脾细胞仅有 0.3:1左右, 说明抑制剂没有完全抑制住受体对供体基因细胞的特异性杀伤, 见图2。



2.4 DBA/BALB/c悬液输注后各组杀伤情况 DBA在

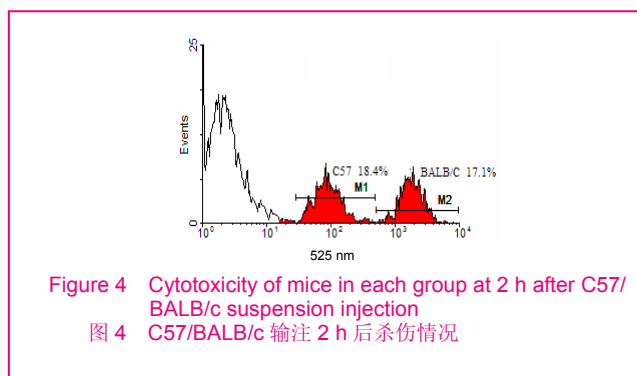
自体移植模型组与排斥模型组外周血2 h后DBA/BALB/c阳性细胞比例相同均在32%左右, 说明2组杀伤率相同, DBA细胞在只占阳性细胞的1/3是由于输注前细胞比例就在1/3左右, 而不是1:1。

当注射时混合比例不等于1:1时, C57-BALB/c 模型小鼠在DBA脾细胞输注后2 h和24 h后外周血DBA阳性细胞比例虽然由2.8%降到0.2%, 但是与受体BALB/c脾细胞的比例始终维持在32%左右, 说明24 h内模型小鼠对DBA脾细胞无特异性杀伤, 见图3。



2.5 裸鼠移植模型对 C57 及BALB/c 脾细胞杀伤情况 细胞输注2 h后, 裸鼠模型未表现出对C57及BALB/c脾细胞特异性杀伤作用。

裸鼠皮肤移植模型与排斥模型表现出不同免疫状态, C57 皮肤移植不能致敏裸鼠产生针对 C57 复合抗原的特异性排斥反应, 见图4。

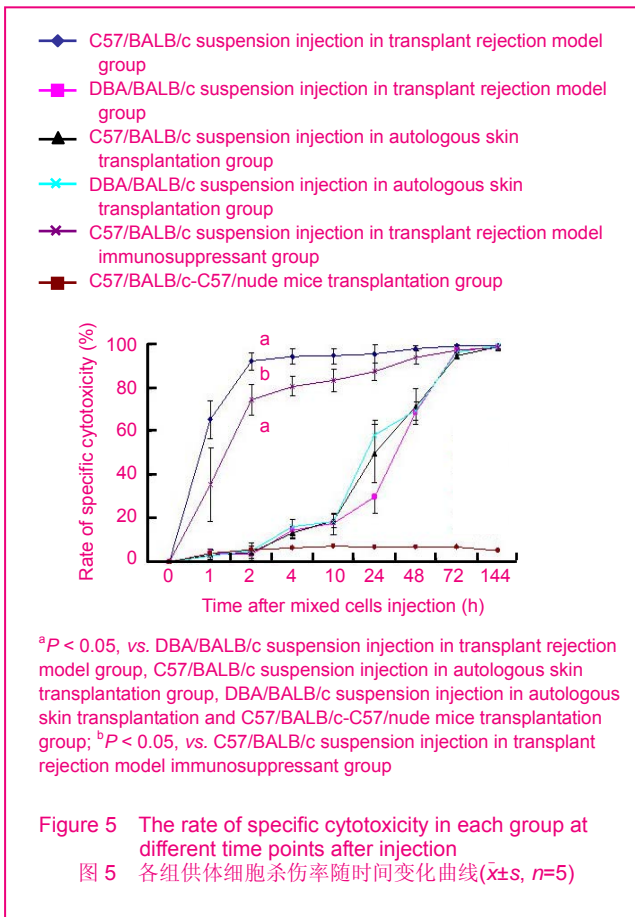


2.6 各组供体细胞杀伤率随时间的变化 S-N-K法分析显示细胞输注2 h后, C57/BALB/c悬液-移植排斥模型组供体细胞杀伤率与其他组差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。

C57/BALB/c悬液-移植排斥模型免疫抑制剂组与其他组差异有显著性意义 ($P < 0.01$)。

细胞悬液输注后2 h C57/BALB/c悬液-移植排斥模型组杀伤率最高; C57/BALB/c-C57-裸鼠移植组杀伤率最低。

各组杀伤率情况见图5。



3 讨论

目前, 人们围绕着免疫反应发生、发展过程中所涉及的细胞及分子, 提出了一系列监测指标, 包括了解浸润细胞的表型及功能, T细胞性质的改变、细胞因子及抗体的合成情况、嵌合体的检测、基因分析等^[5-13], 它们从不同侧面反映着机体的免疫水平。由于免疫反应的复杂性, 上述免疫学检测方法均有其局限性, 依靠单一免疫指标来评估机体的免疫状态不太现实, 临床上衡量器官移植后排斥反应及免疫抑制治疗的效能主要通过病理活检和移植物功能情况来进行评估。荧光流式细胞技术的应用使特异性淋巴细胞毒性实验(cytotoxic T-lymphocyte response, CTL)测定方法得到一次飞跃^[14-15], 取代⁵¹Cr释放, 使体外CTL技术具有更高的敏感性和特异性, 且增加了实验的安全性, 避免了实验中的放射性污染现象。由于体外的CTL实验不能模拟体内的生物环境, 受影响因素太多, 有学者提出了体内的CTL实验^[16-17], 即把同基因的靶细胞+抗原肽输入被该抗原肽免疫的动物体内, 同时设置阴性参照, 来评估靶细胞受杀伤的情况, 据此来测定体内CTL活性。但是这些试验均只局限于特异性CTL细胞对特异的单纯抗原的反应, 而排斥反应的抗原是多种复合抗原, 体内淋巴

细胞毒性实验显然不能全面反应这个过程, 只能反应体内的CTL对特定抗原的杀伤作用。

本文在供/受体复合抗原同步灭失量化监测原则基础上建立的一种新型的、简单的免疫状态监测方法, 用带有移植物复合抗原的供体细胞检测受体的免疫杀伤强度, 供体细胞在受体内受到的不仅仅是毒性淋巴细胞攻击, 而且同时要受到抗体、补体、自然杀伤细胞等的多重攻击, 因此对移植复合抗原的定量测试不但能反应特异性CTL的活性, 而且能反映出体内复杂的细胞免疫和体液免疫过程, 因此能全面地反映移植物受体免疫状态; 供体细胞由于同移植物抗原性完全一致, 可以最大程度反映移植物在受体内所处的免疫环境, 所以其结果是有供体特异性的。

本实验中C57/BALB/c悬液-皮肤移植排斥模型证实体内细胞毒性试验的可重复性, 注射2 h后C57脾细胞基本被完全清除, 成功建立的排斥模型当再次接触移植抗原C57脾细胞时立即动员免疫系统, 如特异性抗体、特异性CTL、补体等对入侵供体抗原发出猛烈地攻击, C57脾细胞在2 h基本被消灭干净, 而内参照的BALB/c细胞则没有明显的变化; DBA混合细胞悬液输注2 h在模型组及自体皮肤移植组杀伤率基本相同, 结果表明C57(H-2d)皮肤移植的BALB/c小鼠(C57致敏)对DBA(H-2b)脾细胞没有特异性杀伤, 本实验能直观地显示DBA脾细胞在注射后2 h仍然大量存在, 与自体皮肤移植相比, DBA/BALB/c细胞比例差异无显著意义。说明体内细胞毒性试验能特异性检测受体免疫状态, 而对第三对照抗原无特异性; C57/BALB/c悬液-自体皮肤移植组和DBA/BALB/c悬液-自体皮肤移植组结果显示, 自体移植对机体的刺激没有致敏作用, 不管对C57或者是DBA脾细胞均无特异性杀伤作用, 说明同系自体移植没有致敏作用。他克莫司是继环孢A素以后发现的又一种新的强效免疫抑制剂, 他克莫司对T细胞有选择性的抑制作用, 主要是通过抑制辅助性T细胞释放白细胞介素2, 3, γ 干扰素以及抑制白细胞介素2受体的表达而发挥作用。他克莫司免疫抑制组显示C57脾细胞在注射2 h后仅被部分清除, 与没有应用免疫抑制剂的排斥模型组相比, C57/BALB/c细胞比例差异有显著性意义, 免疫抑制剂组C57/BALB/c脾细胞明显高于未应用免疫抑制剂的排斥模型组, 说明免疫抑制剂的应用对C57脾细胞的免疫攻击有减弱作用, 未应用免疫抑制剂的排斥模型组2 h基本完全清除, 而免疫抑制组排斥模型到3 d时才被完全清除, 他克莫司可能有效抑制免疫排斥状态。也说明体内细胞毒性试验能直观地反映受体免疫抑制状态; 裸鼠组结果说明裸鼠的杀伤力较低, 2种细胞的减少是非特异性的细胞死亡所致, 没有出现特异性杀伤, C57/BALB/c脾细胞会基本等比例下降, 直到两群细胞非特异性死亡。裸鼠为免疫缺陷鼠, T细胞不能正常分

化, 缺乏成熟T细胞的辅助、抑制及杀伤功能, 因而细胞免疫力低下。因此, 应用荧光细胞示踪流式细胞检查的体内细胞毒性试验能直观反应移植模型BALB/c小鼠对C57小鼠处于急性排斥状态, 并能很好地区分出免疫抑制下的抑制排斥模型小鼠与免疫耐受的裸鼠模型的免疫状态, 检测方法具有抗原特异性, 是一种很好的特异性的监测机体免疫状态的方法。同基因内参照的设立使流式细胞结果能直观地准确地反应体内排斥反应过程。且试验可重复性强、操作简单、便宜, 为移植后受体免疫排斥检测提供了新的可行的方法。

体内细胞毒性试验的机制决定了其应用的广泛性, 只要能获取足够数量的检测的靶细胞及同基因内参照细胞, 荧光染料CFSE几乎能对所有动物活细胞染色, 所以就能够实现对移植受体的免疫状态进行检测, 因此有着广阔的应用前景^[18]。

总的来说, 目前的研究表明, 体内细胞毒性试验能够比较准确地反映受体的免疫排斥反应强度, 能够准确地预测移植后排斥反应的发生, 已经初步展现了其免疫检测的特有优势, 但是其在免疫检测方面的研究才刚刚起步, 仍有大量的工作需要进一步完成, 而本实验只在小鼠皮肤移植中得到应用, 未在大动物移植模型中得到证实, 且应用脾细胞作为检测细胞有诸多不便。故其应用范围还比较有限, 为拓展其应用范围, 仍需进一步研究和完善。

4 参考文献

- [1] Quatra F, Lowenberg DW, Buncke HJ, et al. Induction of tolerance to composite tissue allograft in a rat model. *Microsurgery*. 2006; 26(8):573-578.
- [2] Pretagostini R, Cinti P, Lai Q, et al. Minimization of immunosuppressive therapy and immunological monitoring of kidney transplant recipients with long-term allograft survival. *Transpl Immunol*. 2008;20(1-2):3-5.
- [3] Alegre ML, Najafian N. Costimulatory molecules as targets for the induction of transplantation tolerance. *Curr Mol Med*. 2006;6(8): 843-857.
- [4] Truong DQ, Bourdeaux C, Wieërs G, et al. The immunological monitoring of kidney and liver transplants in adult and pediatric recipients. *Transpl Immunol*. 2009;22(1-2):18-27.
- [5] Waldmann H, Chen TC, Graca L, et al. Regulatory T cells in transplantation. *Semin Immunol*. 2006;18(2):111-119.
- [6] Pirenne J, Kitade H, Kawai M, et al. Regulatory cells, TH1/TH2 unbalance, and antibody-induced chronic rejection in operational tolerance induced by donor-specific blood transfusion. *Transplantation*. 2005;79(3 Suppl):S25-27.
- [7] Tung TH, Mohanakumar T, Mackinnon SE. TH1/TH2 cytokine profile of the immune response in limb component transplantation. *Plast Reconstr Surg*. 2005;116(2):557-566.
- [8] Alakulppi NS, Kyllönen LE, Partanen J, et al. Diagnosis of acute renal allograft rejection by analyzing whole blood mRNA expression of lymphocyte marker molecules. *Transplantation*. 2007;83(6):791-798.
- [9] Chung SW, Yoshida EM, Cattral MS, et al. Donor-specific stimulation of peripheral blood mononuclear cells from recipients of orthotopic liver transplants is associated, in the absence of rejection, with type-2 cytokine production. *Immunol Lett*. 1998; 63(2): 91-96.

- [10] Chen Y, Wood KJ. Interleukin-23 and TH17 cells in transplantation immunity: does 23+17 equal rejection? *Transplantation*. 2007; 84(9): 1071-1074.
- [11] Warlé MC, Farhan A, Metselaer HJ, et al. In vitro cytokine production of TNF α and IL-13 correlates with acute liver transplant rejection. *Hum Immunol*. 2001;62(11):1258-1265.
- [12] Alakulppi N, Seikku P, Jaatinen T, et al. Feasibility of diagnosing subclinical renal allograft rejection in children by whole blood gene expression analysis. *Transplantation*. 2008;86(9):1222-1228.
- [13] Allanach K, Mengel M, Einecke G, et al. Comparing microarray versus RT-PCR assessment of renal allograft biopsies: similar performance despite different dynamic ranges. *Am J Transplant*. 2008;8(5):1006-1015.
- [14] Hagihara M, Shimura T, Takebe K, et al. Xenogeneic iso-skin graft and mixed lymphocyte reaction studies using HLA-DP transgenic mice. *Transpl Immunol*. 1996;4(3):220-226.
- [15] Asthana D, Yang WC, Fuller L, et al. Differential effects of IFN- γ on kidney cell expression of MHC class II molecules, kidney cell associated molecules and their stimulatory capacity in mixed lymphocyte kidney cell culture. *Transpl Immunol*. 1993;1(4): 282-293.
- [16] Hermans IF, Silk JD, Yang J, et al. The VITAL assay: a versatile fluorometric technique for assessing CTL- and NKT-mediated cytotoxicity against multiple targets in vitro and in vivo. *J Immunol Methods*. 2004;285(1):25-40.
- [17] Ritchie DS, Hermans IF, Lumsden JM, et al. Dendritic cell elimination as an assay of cytotoxic T lymphocyte activity in vivo. *J Immunol Methods*. 2000;246(1-2):109-117.
- [18] Asquith B, Debacq C, Florins A, et al. Quantifying lymphocyte kinetics in vivo using carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE). *Proc Biol Sci*. 2006;273(1590):1165-1171.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 国家自然科学基金资助项目(30972825), 供体抗原特异性体内免疫状态体内定量检测的基础研究。

作者贡献: 第一作者潘明新和通讯作者蒋泽生进行试验设计, 由第二作者钟利民实施实验并收集资料, 实验评估为第三作者汪艳, 文章的审校由高毅和蒋泽生负责, 通讯作者高毅和蒋泽生对文章负责, 由于高毅和蒋泽生对实验的贡献相同, 故并列为通讯作者。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理批准: 本实验已获得本单位伦理委员会批准, 并符合2009年《Ethical issues in animal experimentation》相关动物伦理学标准的条例。

文章概要:

文章要点: 用带有移植植物复合抗原的供体细胞来检测受体的免疫状态, 其抗原性与移植植物完全一致。

关键信息: 体内用带有移植植物复合抗原的供体细胞来检测受体的免疫状态, 能全面地反映出受体对移植植物的免疫排斥强度, 较全面地反映出受体的免疫状态。

研究的创新之处与不足: 体内实验, 消除了体外处理的误差; 设置了同基因脾细胞为内参照细胞, 消除了系统误差; 流式细胞技术的应用, 结果精确可靠。但是本研究对复合抗原在受体体内的灭活机制仍需进一步探讨和研究, 细胞免疫及体液免疫机制在复合抗原灭活中的作用仍需进一步阐明。